



OBTENCIÓN DE CALLOS DE *Jacobina spicigera* PRODUCTORES DE FITOESTROGENOS

Silvia E.Loredo Carrillo y María del Socorro Santos Díaz. CIEP de la Facultad de Ciencias Químicas, UASLP.
Manuel Nava 6, CP 78210, Tel (444) 8262440, Fax (444) 8262372, San Luís Potosí, México.
qfbseic@yahoo.com.mx; ssantos@uaslp.mx.

Introducción. El uso de estrógenos sintéticos para disminuir los síntomas de la menopausia provoca efectos secundarios como obesidad, cefaleas y paño, y aumentan el riesgo de contraer cáncer de mama o de útero (1). Por ello, es importante buscar nuevos principios con actividad estrogénica (fitoesteroides y flavonoides) que presenten nulos o mínimos efectos secundarios. El té de hoja de la planta *Jacobina spicigera* se usa en medicina tradicional para disminuir la sintomatología de la menopausia. Sin embargo, los principios activos se encuentran en baja concentración. Una alternativa para obtener los metabolitos en altas concentraciones, sin afectar las poblaciones naturales, es el cultivo de tejidos vegetales. Esta metodología permite además aumentar la concentración de los metabolitos modificando las condiciones de cultivo.

Objetivo. Obtener callos de *J. spicigera* productores de fitoesteroides y/o flavonoides e incrementar su producción modificando las condiciones de cultivo.

Metodología. Para determinar el efecto del explante sobre el establecimiento del cultivo *in vitro* se usaron hojas, cáliz y tallos. Éstos se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 20%, con etanol al 70% y con 10 ml/L de Plant Preservative Mixture. Con el fin de inducir la formación de callo, los segmentos de hoja, tallo y cáliz se cultivaron en medio MS conteniendo 1 mg/L de ácido indolacético (AIA), ácido indolbutírico (AIB), ácido naftalenacético (ANA) o ácido 2,4 diclorofenoxiacético (2,4-D). Una vez seleccionada la mejor auxina y el mejor explante se probaron diferentes concentraciones de auxina (0.5, 1, 2 y 3 mg/L). Se probó también el efecto del medio WPM (Woody Plant Media) adicionado con 1 mg/L de 2,4-D y una mezcla de antioxidantes que contenía 1.5 mg/L de ácido cítrico, 1 mg/L de ácido ascórbico y 3 g/L de polivinilpirrolidona. En los extractos polares de callos se cuantificaron los niveles de esteroides de acuerdo al método descrito por la AOAC 1970 (2) y la de flavonoides con el método de la Farmacopea alemana (3). Para tratar de incrementar la producción de fitoestrógenos, los callos se sometieron a estrés abiótico. El estrés osmótico se indujo cultivando los callos en medios con 30, 40, 50, 60 y 100 g/L de sacarosa. El estrés hídrico se indujo manteniendo los callos en medios con 2.5, 5 y 10% de polietilenglicol (PEG). Los datos se analizaron por ANOVA y prueba de Tukey ($p < 0.05$).

Resultados y Discusión. El explante que generó la mayor cantidad de callo fue la hoja. La auxina que indujo la mayor formación de callo fue 2,4-D (87%), seguida de AIB (31%), AIA (20%) y ANA (7%) a los 30 días (Cuadro 1). La concentración de 2,4-D que generó la mayor cantidad de callo (71%) fue 1 mg/L. El callo obtenido fue verde y compacto.

Cuadro 1. Efecto de las auxinas sobre la formación de callo a partir de hoja de *J. spicigera*¹

Auxina	No. de explantes	Callo				Total de explantes con callo (%)
		Cero	Poco	Moderado	Alto	
AIB	42	69a	24a	7a	0a	31a
2,4-D	45	39b	20a	28b	13b	87b
ANA	39	92a	5b	3a	0a	7a
AIB	40	80a	20a	0a	0a	20a

¹Valores entre las columnas con letras diferentes son estadísticamente significativos ($P < 0.05$).

El análisis de los extractos de callos mostró que contienen la misma cantidad de flavonoides pero producen 3.4 veces más fitoesteroides que la hoja (Cuadro 2).

El estrés osmótico inducido con 6% y 10% de sacarosa originó la oxidación de los callos. Concentraciones de 3, 4 y 5% de sacarosa en el medio incrementaron entre 2-3 veces los niveles de flavonoides en comparación al callo sin estrés. Sin embargo, la concentración de esteroides fue menor que en el callo testigo (Cuadro 2). El estrés hídrico no tuvo efecto importante en los niveles de flavonoides y esteroides en relación al callo control.

Cuadro 2. Efecto del estrés abiótico sobre el contenido de esteroides y flavonoides en callos de *J. spicigera*

Tejido	Estrés	Flavonoides (mg L ⁻¹)	Esteroides (mg L ⁻¹)
Hoja	-----	0.42 ± 0.014	0.78 ± 0.001
Callo	-----	0.43 ± 0.004	2.70 ± 0.045
Callo	PEG 2.5%	0.55 ± 0.009	2.20 ± 0.10
Callo	PEG 5%	0.30 ± 0.006	2.74 ± 0.045
Callo	PEG 10%	0.51 ± 0.001	1.99 ± 0.07
Callo	Sacarosa 3%	1.40 ± 0.10	3.10 ± 0.1
Callo	Sacarosa 4%	1.05 ± 0.05	1.63 ± 0.015
Callo	Sacarosa 5%	1.10 ± 0.10	1.63 ± 0.014

Conclusiones. 1) Fue posible lograr el establecimiento de callos productores de fitoesteroides y flavonoides y 2) Se incrementó el contenido de fitoestrógenos al someter los callos a estrés osmótico.

Bibliografía

- Landa A. 2003. Utilidad de la Terapia Hormonal Sustitutiva. *Bol. de Inf. Farmacoteraputica de Navarra* 11 (2), 9-16 pp.
- AOAC. 1970 Oficial Methods of Analyses. *Association of Analytical Chemists Washington, DC*, 1025 pp.
- Franz G. and Koehler H. 1992. *Drogen und Naturstoffe. Grundlagen und Praxis der Chemischen Analyse*. Springer-Verlag, Berlin, Germany. 308 pp.